



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CAMPUS PROFESSOR ANTÔNIO GARCIA FILHO
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA DE LAGARTO
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

SABRINA NASCIMENTO RIBEIRO

**O CONDICIONAMENTO DA DENTINA COM SOLUÇÕES
IRRIGADORAS E MATERIAIS BIOATIVOS INFLUENCIA NA
LIBERAÇÃO DE FATORES DE CRESCIMENTO?**

**Lagarto
2022**

Sabrina Nascimento Ribeiro

**O Condicionamento da Dentina com Soluções Irrigadoras e Materiais Bioativos
Influencia na Liberação de Fatores de Crescimento?**

Trabalho apresentado ao Departamento de Odontologia da Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à obtenção do grau de cirurgião-dentista.

Orientador (a): Prof^a Dr^a Juliana Yuri Nagata.

**Lagarto
2022**

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha mãe (Ana Santana Nascimento), ao meu namorado (Ygor Ribeiro Siqueira) e a minha irmã (Raylayne Kelly Nascimento Ribeiro) por sempre me apoiarem em todos os momentos, sejam esses educacionais ou pessoais, e sempre me motivarem a alcançar meus objetivos.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Agradeço a Prof^a Dr^a Juliana Yuri Nagata, por toda paciência, incentivo, dedicação, carinho, confiança e exemplo durante toda a elaboração desse trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por sempre me proporcionar forças para continuar a busca pelos meus sonhos, mesmo diante das adversidades. Sou muito grata à minha mãe (Ana Santana Nascimento), minha tia/ madrinha (Mary de Santana Nascimento) e ao meu namorado (Ygor Ribeiro Siqueira); por todo apoio e ajuda durante cada etapa da graduação. Também agradeço a todos os meus professores e aos meus colegas de graduação, por sempre se fazerem presentes diariamente, em especial a minha orientadora, Prof^ª Dr^ª Juliana Yuri Nagata, por todo apoio e paciência ao longo desse trajeto. Aos meus professores do ensino fundamental, ensino médio e do curso pré-universitário, por todos os ensinamentos e incentivo, principalmente a Joel, Lucivaldo, Angélica, Clóvis e Sebastião. Por fim, agradeço a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente durante esta etapa da minha vida.

Muito Obrigado!

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

À **Universidade Federal de Sergipe (UFS)**, em especial ao Departamento de Odontologia de Lagarto.

À **Pró-reitoria de Extensão (PROEX)**.

À **Divisão de Assistência Estudantil (DAE)**.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)**.

Ao **Pré-Universitário da Secretaria de Estado da Educação de Sergipe (Preuni/Seed)**.

RESUMO

O CONDICIONAMENTO DA DENTINA COM SOLUÇÕES IRRIGADORAS E MATERIAIS BIOATIVOS INFLUENCIA NA LIBERAÇÃO DE FATORES DE CRESCIMENTO?

Introdução: Vários fatores de crescimento encontram-se fossilizados na matriz dentinária, como o Fator de Crescimento Transformador-beta 1 (TGF- β 1). **Objetivo:** Descrever os estudos sobre a influência do condicionamento da dentina com diferentes tipos de soluções irrigadoras e de materiais bioativos na liberação de fatores de crescimento, bem como suas ações sobre células mesenquimais indiferenciadas. **Metodologia:** A busca e seleção dos artigos científicos (n=15) foi realizada na base de dados *PubMed*, envolvendo publicações internacionais no período entre 2006 a 2021, que descrevessem uma comparação entre diferentes substâncias químicas (soluções ou medicações) na liberação de fatores de crescimento e quais os tipos de mediadores eram liberados. **Resultados/Discussão:** As soluções irrigadoras descritas nos artigos com potencial de ação na liberação de fatores de crescimento da dentina foram o EDTA 10% ou 17%, Ácido Cítrico 10%, Ácido Fosfórico 10% ou 37%, NaOCl 1,5%, Ácido Fítico 1% (IP6) e Ácido Etidrônico 9% (HEDP), e associações como, por exemplo, NaOCl 1,5% + EDTA 17%. Com relação aos materiais reparadores com atuação condicionante, as seguintes substâncias foram estudadas: Soluções de Hidróxido de Cálcio, MTA Branco, MTA Cinza, Biodentine, TAP e outros Cimentos à Base de Silicato de Cálcio. O fator de crescimento TGF- β 1 foi o principal mediador quantificado nas duas temáticas. Dentre os estudos abordando as soluções irrigadoras, seis artigos demonstraram que o EDTA (10% ou 17%) permitiu uma maior liberação de fatores de crescimento, principalmente de IGF-1, porém três estudos demonstraram que o Ácido Cítrico 10% mostrou-se superior ao EDTA tanto na liberação de TGF- β 1 como no recrutamento, na fixação e na sobrevivência das células-tronco. Em relação aos materiais bioativos, há poucos estudos comparando as mesmas substâncias. Um artigo mostrou que o Biodentine aplicado como material capeador promoveu uma maior liberação de TGF- β 1 da dentina do que o MTA. Por outro lado, outro estudo concluiu que o MTA branco/ cinza liberaram um perfil mais amplo de moléculas de sinalização em comparação ao Ca (OH) $_2$. **Conclusão:** A partir desse estudo, observou-se o potencial de ação das substâncias químicas rotineiramente utilizadas no tratamento endodôntico como atuantes na liberação de fatores de crescimento fossilizados na dentina. Porém, mais estudos são necessários para poder esclarecer o melhor protocolo de condicionamento.

Palavras-chave: *“Fatores de crescimento”, “fator transformador de crescimento beta 1”, “solução irrigante”, “materiais de silicato de cálcio”, “pulpotomia”, “dentina” e “células mesenquimais”.*

ABSTRACT

DOES DENTIN CONDITIONING WITH IRRIGATION SOLUTIONS AND BIOACTIVE MATERIALS INFLUENCE THE RELEASE OF GROWTH FACTORS?

Introduction: Several growth factors are fossilized in the dentin matrix, such as Transforming Growth Factor-beta 1 (TGF-b1). **Objective:** To describe studies on the influence of dentin conditioning with different types of irrigating solutions and bioactive materials on the release of growth factors, as well as their actions on undifferentiated mesenchymal cells. **Methodology:** The search and selection of scientific articles (n=15) was carried out in the PubMed database, involving international publications from 2006 to 2021, which described a comparison between different chemical substances (solutions or medications) in the release of risk factors. growth and what types of mediators were released. **Results/Discussion:** The irrigating solutions described in the articles with action potential in the release of dentin growth factors were 10% or 17% EDTA, 10% Citric Acid, 10% or 37% Phosphoric Acid, 1.5% NaOCl, Phytic Acid 1% (IP6) and Etidronic Acid 9% (HEDP), and associations such as, for example, NaOCl 1.5% + EDTA 17%. Regarding repair materials with conditioning action, the following substances were studied: Calcium Hydroxide Solutions, White MTA, Gray MTA, Biodentine, TAP and other Cements based on Calcium Silicate. The growth factor TGF-b1 was the main quantified mediator in the two themes. Among the studies addressing irrigating solutions, six articles showed that EDTA (10% or 17%) allowed a greater release of growth factors, mainly IGF-1, but three studies showed that Citric Acid 10% was superior to EDTA both in the release of TGF-b1 and in the recruitment, fixation and survival of stem cells. Regarding bioactive materials, there are few studies comparing the same substances. One article showed that Biodentine applied as capping material promoted a greater release of TGF-b1 from dentin than MTA. On the other hand, another study concluded that white/gray MTA released a broader profile of signaling molecules compared to Ca(OH)₂. **Conclusion:** From this study, we observed the action potential of chemical substances routinely used in endodontic treatment as acting in the release of fossilized growth factors in dentin. However, more studies are needed to clarify the best conditioning protocol.

Keywords: “growth factors”, “transforming growth factor beta 1”, “irrigant solution”, “calcium silicate materials”, “pulpotomy”, “dentin” e “mesenchymal cells”.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Principais resultados dos estudos que comparam diferentes substâncias químicas auxiliares na Endodontia com relação à liberação de fatores de crescimento da dentina.....27
- Tabela 2** - Relação entre medicação intracanal e liberação de fatores de crescimento da dentina.....33



LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC: Ácido Cítrico
AF: Ácido Fosfórico
APC: Células Isoladas da Papila Apical Humana
BD: Biodentine
BMP-2: Proteína Morfogênica Óssea 2
BMP-7: Proteína Morfogênica Óssea 7
Ca (OH)₂: Hidróxido de cálcio
CHX: Clorexidina
CSI: Irrigação com Seringa Convencional
DPSC: Células-tronco da Polpa Dentária
EDTA: Ácido Etilenodiamino Tetra-acético
FGF-2: Fator de Crescimento de Fibroblasto Básico 2
FGF: Fator de Crescimento de Fibroblasto Básico
GM-CSF: Fator Estimulador de Colônia de Granulócitos e Macrófagos
GDNF: Fator Neurotrófico Derivado de Células da Glia
HEDP: Ácido Etidrônico
IGF-1: Fator de Crescimento Semelhante à Insulina tipo 1
IGFBP-1: Proteína 1 de Ligação ao Fator de Crescimento Semelhante à Insulina
IP6: Ácido Fítico
M-CSF: Fator Estimulador de Colônias de Macrófago
MTA: Agregado Trióxido Mineral
NaOCl: Hipoclorito de Sódio
NGF: Fator de Crescimento de Neurônios
PUI: Irrigação Ultrassônica Passiva
PBS: Solução Salina Tamponada com Fosfato
REPs: Procedimentos Endodônticos Regenerativos
SCF: Fator de Célula Tronco
TAP: Pasta Tripla Antibiótica
TGF-β 1: Fator de Transformação de Crescimento Beta 1
VEGF: Fator de Crescimento Endotelial Vascular

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	OBJETIVOS.....	16
3	METODOLOGIA.....	18
4	REVISÃO DE LITERATURA.....	20
4.1	"Influência das Substâncias Químicas Auxiliares (Condicionantes) na liberação de fatores de crescimento da Dentina".....	20
	Tabela 1. Principais resultados dos estudos que comparam diferentes substâncias químicas auxiliares na Endodontia com relação à liberação de fatores de crescimento da dentina.....	27
4.2	"Ação de materiais bioativos na liberação de fatores de crescimento da dentina".....	29
	Tabela 2. Relação entre medicação intracanal e liberação de fatores de crescimento da dentina.....	33
5	DISCUSSÃO.....	36
6	CONCLUSÃO.....	43
7	REFERÊNCIAS.....	45

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Os fatores de crescimento presentes na dentina e liberados quimicamente, por meio da utilização de substâncias químicas, desempenham um papel crítico nos procedimentos endodônticos regenerativos (e.g. endodontia regenerativa e terapias para polpas vitais), pois ao estimular a atividade secretora dos odontoblastos, induzem a migração, proliferação e diferenciação das células-tronco da polpa dental (GALLER, K. M. *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2011; SALEHI *et al.*, 2016; SLOAN; SMITH, 2007), além de exercer funções benéficas incluindo, o estímulo de respostas celulares, a modificação da resposta imune e a promoção de angiogênese (GALLER, KERSTIN M. *et al.*, 2015).

Vários fatores de crescimento encontram-se fossilizados na matriz dentinária, como o Fator de Crescimento Transformador-beta 1 (TGF- β 1), Fator de Crescimento Semelhante à Insulina 1 (IGF-1), Fator de Crescimento Derivado das Plaquetas (PDGF), Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF), Fator de Crescimento de Fibroblastos Básico (bFGF), Fator de Crescimento Epidérmico (EGFR), Fator de Crescimento de Fibroblasto 2 (FGF-2) e a Proteína Morfogenética Humana 2 e 4 (BMP-2 e -4) (GOLDBERG *et al.*, 2006, 2008; HOWARD; MURRAY; NAMEROW, 2010; RUFAS *et al.*, 2016; SMITH, ANTHONY J. *et al.*, 2016; ZENG *et al.*, 2016). Dentre esses fatores, destaca-se o TGF- β 1, considerada a molécula chave para regeneração pulpar, uma vez que, age como um mediador da sinalização, diferenciação de células tronco em *odontoblastos-like* que irão atuar na mineralização e quimiotaxia de diferentes tipos celulares (LI *et al.*, 2011).

A descoberta do papel essencial de fatores de crescimento, fossilizados na dentina, no processo regenerativo/reparador, tem influenciado positivamente na evolução do entendimento/aplicação das terapias pulpares vitais, as quais têm ganhado destaque, nos últimos anos, como uma alternativa de tratamento para casos de pulpites (reversíveis/irreversíveis) tanto em pacientes jovens quanto em adultos (AGUILAR; LINSUWANONT, 2011; ENDODONTISTS, 2015; ZANINI; HENNEQUIN; COUSSON, 2016). Essas terapias visam o tratamento do tecido pulpar exposto à cavidade oral por lesões de cárie ou traumatismo dentário ao invés de removê-lo completamente, preservando estrutura dentária de suporte (diminuindo assim o risco de fraturas ao longo da vida), mantendo os mecanismos de defesa dentária e preservando a capacidade de propriocepção e nocicepção (AGUILAR; LINSUWANONT, 2011). Diante de elevados índices de sucesso encontrados para estas terapias (87,3%) (LINSUWANONT *et al.*, 2017), estudos recentes tem abordado tanto os meios (substâncias químicas – MTA, Hipoclorito de sódio, etc.) pelos quais os fatores

de crescimento são liberados, como a influência da liberação desses fatores de crescimento, armazenados na matriz dentinária, no tratamento do tecido pulpar.

Um dos meios que proporciona a liberação dos fatores de crescimento é a solubilização da dentina induzida pelo ambiente ácido durante a progressão do biofilme da cárie. Além desse modo primário, onde os microrganismos atuam diretamente na desmineralização da dentina com consequente liberação de fatores de crescimento, outra alternativa é induzir essa liberação por meio da ação de substâncias químicas capazes de promover um condicionamento da dentina (MAGLOIRE *et al.*, 2001; ZEHNDER, 2006). Dentre esses agentes desmineralizadores, destaca-se o EDTA 17% (Ácido Etilenodiamino Tetra-acético), considerado o material mais comumente utilizado e recomendado para este fim (Association American of Endodontists, 2016). No entanto, outras substâncias vêm sendo investigadas, incluindo o Ácido Cítrico e Ácido Fosfórico que têm demonstrado potencial na liberação dessas moléculas (VIOLICH; CHANDLER, 2010). Além dessas soluções, algumas medicações intracanáis também se mostraram promissoras quanto a liberação dos mediadores dentinários, como o Hidróxido de Cálcio (Ca (OH) 2), Cimentos à Base de Silicato Tricálcico (TSCs), Agregado de Trióxido Mineral (MTA) e Biodentine (BD) (TAKAHASHI *et al.*, 2013; WATTANAPAKKAVONG; SRISUWAN, 2019).

Essa variedade de materiais capazes de se beneficiar das moléculas bioativas presentes na dentina pode gerar dúvidas diante da quantidade de informações apresentadas na literatura, tornando-se importante interpretar e resumir esses dados sobre os tipos e as concentrações das soluções irrigadoras e medicações intracanáis que mais ativamente possam atuar sobre o condicionamento da dentina, e consequentemente influenciar na modulação, sobrevivência e atividade das células-tronco mesenquimais da polpa dental (GALLER, KERSTIN M. *et al.*, 2011; MARTIN *et al.*, 2014; RUPAREL *et al.*, 2012).

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

O objetivo desse trabalho consiste em revisar na literatura estudos que investigaram a influência, os tipos e benefícios das substâncias irrigadoras e de materiais bioativos na liberação de fatores de crescimento da dentina, bem como suas ações sobre as células mesenquimais indiferenciadas.

3 METODOLOGIA

3 METODOLOGIA

A seleção dos artigos científicos para essa revisão bibliográfica descritiva foi realizada na base de dados PubMed, utilizando a associação das seguintes palavras-chave: “growth factors” AND “dentin”, “growth factors” AND “irrigant solution” AND “dentin”, “growth factors” AND “calcium silicate materials”, “growth factors” AND “mesenchymal cells”, “dentin” AND “mesenchymal cells”, “transforming growth factor beta 1” AND “irrigant solution” AND “dentin”, “growth factors” AND “pulpotomy”. A partir dessa pesquisa inicial, foram selecionados apenas os artigos de revistas internacionais com Qualis Capes A, publicados no período entre 2006 a 2021, com metodologia in vitro e que descrevessem uma comparação entre diferentes substâncias químicas (soluções ou materiais bioativos) na liberação de fatores de crescimento da dentina e quais os tipos de mediadores eram liberados. Ao final da leitura dos títulos e resumos, quinze artigos foram selecionados e descritos nesta revisão que foi dividida em duas temáticas principais: (1) Influência das substâncias químicas auxiliares (condicionantes) na liberação de fatores de crescimento da dentina; e (2) Ação de materiais bioativos à base de silicato de cálcio na liberação de fatores de crescimento da dentina.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 "Influência das Substâncias Químicas Auxiliares (Condicionantes) na Liberação de Fatores de Crescimento da Dentina"

A liberação de fatores de crescimento presentes na dentina por meio de processos químicos representa etapa determinante no sucesso dos procedimentos endodônticos regenerativos para que se obtenha a substituição ou recomposição das estruturas danificadas da polpa, dentina e cimento, bem como células do complexo dentinopulpar (GALLER, KERSTIN M. *et al.*, 2015; HARGREAVES; DIOGENES; TEIXEIRA, 2013; KAUSHIK *et al.*, 2016). Dentre as possibilidades terapêuticas clínicas que podem atuar nessa liberação de fatores de crescimento, pode-se citar o emprego de substâncias químicas nas paredes do canal radicular que atuem na remoção da porção inorgânica da dentina permitindo assim que esses ativos possam exercer suas funções (ZEHNDER, 2006). Estudos mostram que o tipo de solução de irrigação utilizado durante a descontaminação dos canais radiculares pode influenciar na liberação de fatores de crescimento, sendo o EDTA, geralmente a uma concentração de 17%, o agente mais comumente utilizado (ALGHILAN *et al.*, 2017; TREVINO *et al.*, 2011). Dentre os fatores de crescimento que desempenham um papel significativo na regeneração endodôntica, o TGF- β 1, representa um dos principais agentes responsáveis por induzir a proliferação celular, diferenciação e quimiotaxia em diferentes tipos de células (NIWA *et al.*, 2018).

Diante da relevância de se conhecer o papel dessas substâncias na regeneração pulpar, um estudo mensurou a quantidade de TGF- β 1, Fator de Crescimento de Fibroblasto Básico (FGF-2) e Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF) que poderiam ser liberados de discos de dentina humana preparados a partir de molares humanos (GALLER, KERSTIN M. *et al.*, 2015). O protocolo de condicionamento consistiu em imergir cada disco em 100 ml de solução teste (EDTA 10%, pH 6; EDTA 10%, pH 7; EDTA 17%, pH 7; Ácido Cítrico (AC) 10%, pH 2; Tampão Citrato, pH 5; e Tampão de Fosfato de Ácido Cítrico, pH 7) por 5, 10 ou 20 minutos. Posteriormente, os fatores de crescimento foram quantificados por meio do Sistema de Teste de Ensaio Imunoenzimático (ELISA). Os resultados desse estudo, mostraram que o condicionamento com EDTA 10% (pH=7) por 20 minutos resultou na liberação de maiores quantidades de TGF- β 1 (923 pg/ml), quando comparado às demais substâncias testadas, principalmente ao AC 10% e suas variações, que liberaram as menores quantidades (57 pg/ml). Além disso, foi observado que a liberação dos fatores de crescimento

é diretamente proporcional ao tempo, no qual o aumento do tempo de condicionamento resultou em maiores quantidades de TGF- β 1, FGF-2 e VEGF liberadas, entretanto em níveis mais baixos nesses dois últimos (10 pg/ml e 32 pg/ml, respectivamente, após exposição de 20 minutos). Outro aspecto analisado nessa pesquisa, foi a associação entre Clorexidina (CHX) + EDTA e Hipoclorito de Sódio (NaOCl) + EDTA. Verificou-se, então, que quando o condicionamento por EDTA foi precedido pela utilização de CHX (5 min) houve um aumento significativo na liberação de TGF- β 1, porém o mesmo não ocorreu quando o tempo foi aumentado para 10 min, pois a liberação do fator de crescimento em questão foi semelhante ao do EDTA sozinho. Por outro lado, o uso de NaOCl + EDTA reduziu significativamente a liberação de TGF- β 1 (GALLER, KERSTIN M. *et al.*, 2015).

No ano seguinte, investigou-se também o tipo e a quantidade de fatores de crescimento liberados no espaço do canal radicular, utilizando dentes permanentes com raiz única, sem fraturas, ou aberrações anatômicas (ZENG *et al.*, 2016). Para identificar os tipos de fatores de crescimento liberados, os segmentos radiculares foram irrigados com NaOCl 1,5% seguido por EDTA 17% e então mantidos em meio de cultura por 1 dia. Os resultados detectaram a expressão de 11 tipos de fatores de crescimento, incluindo: Fator de Crescimento Epidérmico (EGFR), Fator Estimulador de Colônias 1 (CSF1), Fator de Estimulação de Colônia 3 (CSF3), Proteína de Ligação ao Fator de Crescimento Semelhante à Insulina 1 (IGFBP1), Proteína de Ligação ao Fator de Crescimento Semelhante à Insulina 3 (IGFBP3), Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (PDGF-AB), Fator de Crescimento Transformador Alfa (TGF- α), Fator de Crescimento Transformador Beta 1 (TGF- β 1), Fator de Crescimento Transformador Beta 2 (TGF- β 2), Fator de Crescimento Endotelial Vascular A (VEGF-A), e Fator de Crescimento Endotelial Vascular D (VEGF-D). Já para avaliar a quantidade de TGF- β 1 e FGF liberado, os segmentos de dentina foram irrigados com 20 mL de solução teste (NaOCl 1,5% + EDTA 17%, NaOCl 2,5% + EDTA 17%, EDTA 17%, Água deionizada), por 5 min. Essa quantificação foi mensurada pelo mesmo método utilizado no estudo anterior (Elisa). Quantitativamente, as amostras irrigadas com água deionizada liberaram TGF- β 1 em um nível muito baixo (0,78 ng/ml) enquanto o grupo irrigado apenas com EDTA 17% liberou TGF- β 1 em um nível variando de 4 ng/ml a 16 ng/ml. Após 4 horas da irrigação, 3 grupos (NaOCl 1,5% + EDTA 17%, NaOCl 2,5% + EDTA 17%, e EDTA 17%) não apresentaram diferenças estatísticas na liberação de TGF- β 1. Entretanto, o mesmo não ocorreu no primeiro dia, pois as concentrações de TGF- β 1 atingiram um pico nos grupos NaOCl 1,5% + EDTA 17% e NaOCl 2,5% + EDTA 17%, com ambos os grupos retratando maiores quantidades de TGF- β 1 (69,04 ng/ml, 59,26

ng/ml, respectivamente) que o grupo EDTA 17% (6,92 ng/ml). Já no terceiro dia, a concentração de TGF- β 1 diminuiu em ambos os grupos NaOCl 1,5% + EDTA 17% e NaOCl 2,5% + EDTA 17% (15,16 ng/ml, 13,04 ng/ml, respectivamente) e tornou-se semelhante ao grupo de EDTA 17% (16,25 ng/ml). Por fim, a liberação de FGF em todos os grupos apresentou valores muito baixos em todos os momentos (0 ng/ml a 0,43 ng/ml). Além disso, esse estudo também demonstrou que a presença desses fatores de crescimento estimulou a migração de células-tronco da polpa dentária, o que ressalta ainda mais a importância dessas substâncias na regeneração endodôntica (ZENG *et al.*, 2016).

Outro aspecto importante abordado no ano seguinte, consistiu em formas de potencializar a ação das substâncias químicas auxiliares na liberação de TGF- β 1 fossilizados na dentina. Neste sentido, um estudo analisou o impacto da irrigação com e sem ativação ultrassônica na liberação de fatores de crescimento da dentina humana (WIDBILLER *et al.*, 2017). Para a realização desse estudo, discos de dentina foram preparados a partir de terceiros molares humanos de jovens (15 - 25 anos). Em seguida, os discos de dentina foram distribuídos em placas de 96 poços (Costar®, Corning Inc., Lowell, MA, EUA) e submetidos aos protocolos de irrigação de uma ou duas etapas, com (+) ou sem (-) ativação ultrassônica (US). As substâncias químicas auxiliares foram testadas da seguinte forma: Passo único: PBS (Solução Salina Tamponada com Fosfato) (10 min) + US, EDTA 10% / pH 7 (1 min) + US, EDTA 10% / pH 7 (3 min) + US, EDTA 10% / pH 7 (10 min) - US; ou Dois passos: PBS (10 min) - US, seguido de PBS (1 min) + US; EDTA 10% / pH 7 (1 min) - US, seguido de PBS (1 min) + US; EDTA 10% / pH 7 (10 min) - US, seguido de PBS (3 min) + US; EDTA 10% / pH 7 (10 min) - US, seguido de PBS (5 min) + US. Posteriormente, o TGF- β 1 foi quantificado por meio do teste ELISA. Esse estudo revelou que o tratamento com PBS (10 min) + ou - US não induziu a liberação do fator de crescimento analisado. Entretanto, o tratamento com EDTA em etapa única, liberou uma maior quantidade de TGF- β 1, aumentando progressivamente de acordo com o tempo (197 pg/ml - 1 min, 535 pg/ml - 3 min e 908 pg/ml - 10 min). Além disso, notou-se que o US potencializou o efeito do EDTA, pois a quantidade de TGF- β 1 passou de 197 pg/ml - US para 313 pg/ml + US. Outro achado relevante, foi que no protocolo de duas etapas com EDTA (1 min) seguido por PBS (1 min) + US resultou no aumento da liberação de TGF- β 1 (286 pg/ml), quando comparado ao PBS isoladamente (0 pg/ml). Concomitantemente, esse estudo também estabeleceu um modelo de canal radicular com uma configuração clinicamente relevante para analisar a liberação do TGF- β 1. Para a construção desse modelo, foram incluídos primeiros e segundos molares de indivíduos de todas as faixas etárias, mas que não

apresentavam tratamento endodôntico, raízes curvas ou fechamento apical incompleto. O modelo foi preparado a partir de primeiros e segundos molares que não apresentavam tratamento endodôntico, raízes curvas ou fechamento apical incompleto. Sendo então submetidas aos seguintes protocolos de irrigação: PBS (10 min) + US, EDTA (10 min), seguido de PBS (5 min) + US e EDTA (3 min) + US. Diferentemente do que ocorreu com os discos de dentina, os modelos de raízes condicionados com PBS (10 min) + US liberaram uma quantidade considerável de fator de crescimento (382 pg/ml). Porém, os maiores valores de TGF- β 1 foram obtidos por meio da ativação ultrassônica de EDTA (3 min) (3445 pg/ml). Nesse sentido, nota-se que a US potencializou a liberação do fator de crescimento em questão (WIDBILLER *et al.*, 2017).

Além das conhecidas propriedades benéficas do EDTA na liberação de agentes ativos no canal radicular, outro estudo analisou a quantidade de TGF-b1 liberada após o emprego de outros irrigantes finais durante procedimentos endodônticos regenerativos (CHAE; YANG; KIM, 2018). Para isso, também foram utilizados segmentos de raiz preparados a partir de dentes permanentes com raiz única, sem fraturas, nem aberrações anatômicas. Os irrigantes utilizados nessa investigação envolveram a Solução Salina, EDTA 17%, AC 10%, AF 10% e 37% (Ácido Fosfórico). A quantificação de TGF-b1 também foi mensurada pelo teste ELISA. Os resultados desse estudo mostraram que após 24 horas da irrigação, o AC 10% liberou uma quantidade de TGF-b1 significativamente maior (516 pg/ml), quando comparado ao EDTA 17% (231 pg/ml), enquanto o AF 10% liberou uma quantidade semelhante (240 pg/ml) ao EDTA 17%, porém superior ao AF 37% (53 pg/ml), que não se apresentou significativamente diferente do controle negativo (43 pg/ml). Nesse sentido, o uso de AC 10% mostrou-se mais vantajoso do que o uso de EDTA 17%, pois foi capaz de liberar as maiores quantidades de TGF-b1 da dentina do canal radicular e sem gerar efeitos citotóxicos (CHAE; YANG; KIM, 2018).

Diante da possibilidade vantajosa do AC, o mesmo foi novamente testado quanto à liberação de TGF-b1 da dentina humana em comparação ao EDTA, utilizando um método insensível ao pH (IVICA *et al.*, 2019). Para a análise, foram confeccionados discos de dentina humana preparados a partir de molares humanos. Sendo posteriormente irrigados por 10 min com 300 ml de cada solução teste (AC 10% (pH = 2,476 mol/L), EDTA 17% (ajustado para um pH de 8), ou PBS). Diferente dos outros estudos, a concentração de TGF-b1 foi determinada por meio da Técnica de Slot Blot. Os achados dessa pesquisa demonstraram que houve liberação significativamente maior de TGF-b1 no grupo AC 10% (382 ng/ml), quando comparado ao EDTA (66 ng/ml). Dessa forma, o tratamento com AC mostrou-se, mais uma

vez, superior ao EDTA em relação à liberação de TGF- β 1, influenciando no recrutamento, fixação e sobrevivência de células-tronco, gerando um ambiente propício ao reparo/regeneração (IVICA *et al.*, 2019).

Além da influência do tipo de substância química na liberação de fatores de crescimento da dentina, um estudo do mesmo ano avaliou o efeito da presença de um biofilme bacteriano residual na liberação de TGF- β 1 (CAMERON *et al.*, 2019). Esse estudo utilizou dentes humanos de pacientes com menos de 20 anos, nos quais foi induzida a formação de biofilme dental composto pelas espécies bacterianas *Actinomyces naeslundii*, *Fusobacterium nucleatum* e *Parvimonas micra*. Inicialmente, as bactérias foram cultivadas separadamente e em seguida misturadas em uma proporção de 1: 1: 1 em um volume total de 40 ml, sendo posteriormente transferidos para cultivo nos segmentos de raiz preparados. Após a formação do biofilme, as amostras foram submetidas aos seguintes protocolos de irrigação: a) NaOCl 1,5%, b) EDTA 17% e c) NaOCl 1,5% + EDTA 17%, seguidas por mensuração da quantidade de TGF- β 1 por meio do teste de ELISA. Os resultados desse estudo evidenciaram que na ausência de biofilme as amostras irrigadas com EDTA 17% promoveram significativamente maior liberação de TGF- β 1 da dentina, enquanto a liberação desse fator foi completamente abolida quando a dentina foi irrigada apenas com NaOCl 1,5%. Por outro lado, quando esses irrigantes foram associados (NaOCl 1,5% + EDTA 17%) houve a reversão total dos efeitos prejudiciais do NaOCl 1,5% sozinho. Porém, o mesmo não ocorreu sob condições infectadas, pois houve uma redução na quantidade de TGF- β 1 independente da solução. De uma forma geral esse estudo demonstrou que um biofilme residual interfere negativamente na liberação de fatores de crescimento da dentina (CAMERON *et al.*, 2019).

Outras substâncias químicas também têm sido testadas quanto ao potencial de liberação de fatores de crescimento da dentina como o Ácido Fítico (IP6) e o Ácido Etidrônico (HEDP) (DENIZ SUNGUR *et al.*, 2019). Essas duas substâncias (IP6 e HEDP) apresentam propriedades quelantes, sendo o primeiro um composto de fosfato natural presente em sementes de plantas, enquanto o último, oferece a vantagem de não interferir nas propriedades antimicrobianas do NaOCl (ARIAS-MOLIZ *et al.*, 2014). Diante dessas propriedades, um estudo realizado com discos de dentina, preparados a partir de molares humanos totalmente impactados de pacientes com 18 a 25 anos, investigou o efeito de IP6 e HEDP em comparação ao EDTA, sobre a liberação de TGF- β da dentina. Primeiramente, os discos preparados foram imersos em 1 ml de NaOCl 1,5% por 5 min para remover os tecidos orgânicos, seguido de lavagem com PBS. Em seguida, os discos de dentina foram imersos em 1 ml das soluções quelantes experimentais

(EDTA 17%, IP6 1%, HEDP 9% e Água Destilada/ controle) por 5 min e lavados novamente com PBS. Após essa etapa, os discos foram imersos em PBS (1mL) e incubados a 37° C por até 28 dias e analisados em diferentes intervalos de tempo (4h, 1, 3, 5, 7, 14 e 28 dias). A quantificação do TGF- β liberado dos discos de dentina foi realizada por meio do teste ELISA, assim como a maioria dos estudos anteriores. Os resultados mostraram que a quantidade de TGF- β liberado aumentou gradativamente até o período de 28 dias para todos os grupos, sendo que a maior liberação foi obtida para o grupo HEDP (aproximadamente 240 ng/ml), enquanto grupo IP6 exibiu a menor taxa de liberação (aproximadamente 170 ng/ml). Entretanto, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos (DENIZ SUNGUR *et al.*, 2019).

Diante das propriedades promissoras dessa grande variedade de substâncias químicas, outro estudo também comparou os efeitos do condicionamento da dentina com EDTA, AC 10%, IP6 e Ácido Fosfórico (AF) na liberação de fatores de crescimento, usando discos de dentina preparados a partir de quarenta terceiros molares humanos livres de cárie extraídos de jovens adultos (18-24 anos) (ATESCI *et al.*, 2020). A maioria das substâncias foram condicionadas por 5 min (EDTA 17%, AC 10%, IP6 1%) exceto o AF 37% que foi condicionado por 30s. Posteriormente, foi realizado a mensuração dos seguintes fatores de crescimento: TGF- β 1, BMP-2 (Proteína Morfogênica Óssea 2), FGF-2 (Fator de Crescimento de Fibroblasto Básico) e VEGF (Fator de Crescimento Endotelial Vascular) através do teste ELISA. A partir dessa metodologia, observou-se uma liberação significativamente maior de TGF- β 1 no grupo tratado com AC 10% (aproximadamente 500 pg/mg) seguido pelo grupo do AF 37% (aproximadamente 400 pg/mg), mas sem diferença estatística entre esses grupos. Com relação à presença de VEGF, notou-se uma pequena quantidade liberada desse fator, que esteve mais prevalente no grupo do AF 37% (aproximadamente 60 pg/mg), porém sem diferenças significativas entre os grupos. A liberação de BMP-2 foi considerada semelhante em todos os grupos testados, mas com diferenças significantes em relação ao grupo de controle. Por fim, a liberação de FGF-2 da dentina com EDTA e AF 37% pareceram ser mais eficazes, seguido pelos grupos do AC 10% e IP6, porém sem diferenças estatísticas entre eles. Diante da liberação favorável de fatores de crescimento pelas substâncias analisadas (AC 10%, AF 37% e EDTA), pode-se inferir que as mesmas podem ser consideradas alternativas promissoras no tratamento endodôntico regenerativo (ATESCI *et al.*, 2020).

Mais recentemente, outro estudo investigou os efeitos de diferentes sistemas de ativação de irrigação (Irrigação Ultrassônica Passiva e Laser Er: YAG) e agentes quelantes na liberação de quatro diferentes fatores de crescimento da dentina (HANCERLIOGULLARI; ERDEMIR;

KISA, 2021). Para iniciar a investigação, segmentos de raiz foram preparados a partir de 70 pré-molares inferiores com formação radicular estágio 5, raiz única e canal sem quaisquer malformações anatômicas ou cáries. Posteriormente, os segmentos de raiz foram alocados nos grupos de ativação (Irrigação com Seringa Convencional/ CSI, Irrigação Ultrassônica Passiva/ PUI, Laser Er: YAG) e submetidos a 20 ml de substâncias condicionantes (NaOCl 1,5%, Solução salina, EDTA 17%, AC 10%) por 5 min. Em seguida, os fatores de crescimento (TGF- β 1, IGF-1, BMP-7 e VEGF-A) foram mensurados por meio do teste ELISA. Os resultados desse estudo mostraram que a maior liberação de TGF- β 1, IGF-1 e VEGF-A ocorreu no grupo do AC 10% com ativação Laser Er: YAG, enquanto o BMP-7 foi liberado em maiores quantidades quando o Laser Er: YAG foi associado ao EDTA. Outro achado relevante foi que houve um aumento significativo de TGF- β 1 quando o EDTA foi ativado com PUI ou Laser. Nessa perspectiva, pode-se notar que a ativação das substâncias químicas promoveu um aumento significativo na liberação de fatores de crescimento (HANCERLIOGULLARI; ERDEMIR; KISA, 2021).

Um resumo geral dos principais estudos que investigaram a ação das substâncias químicas auxiliares rotineiramente utilizadas em Endodontia e sua relação com a liberação de fatores de crescimento fossilizados na dentina encontram-se compilados na tabela 1.

Tabela 1. Principais resultados dos estudos que comparam diferentes substâncias químicas auxiliares na Endodontia com relação à liberação de fatores de crescimento da dentina.

Autor	Amostra	Presença de microrganismos	Substâncias Químicas	Fatores de Crescimento	Resultados
Galler et al. 2015	Discos de dentina	Sem microrganismos	EDTA 10% (pH 6), EDTA 10% (pH 7), EDTA 17% (pH 7), AC 10% (pH 2), Tampão Citrato (pH 5), Tampão de Fosfato de AC (pH 7).	TGF- β 1, FGF-2, VEGF.	O condicionamento com EDTA 10% (pH=7) por 20 minutos resultou na liberação de maiores quantidades de TGF-b1.
Zeng et al. 2016	Segmentos radiculares	Sem microrganismos	NaOCl 1,5% + EDTA 17%, NaOCl 2,5% + EDTA 17%, EDTA 17%, Água Deionizada.	TGF- β 1, FGF.	Deteção da expressão de 11 tipos de fatores de crescimento.
Widbiller et al. 2017	Discos de dentina	Sem microrganismos	PBS com US, EDTA 10% (pH 7) com US, EDTA 10% (pH 7) sem US, PBS sem US + PBS com US, EDTA 10% (pH 7) US + PBS com US, EDTA 10% (pH 7) sem US + PBS com US, EDTA 10% (pH 7) sem US + PBS com US.	TGF- β 1	A ativação ultrassônica do EDTA aumenta a liberação de fatores de crescimento.
Chae, Yang e Kim 2018	Segmentos de raiz	Sem microrganismos	Solução Salina, EDTA 17%, AC10%, AF 10%, AF 37%.	TGF- β 1	O AC 10% liberou mais TGF-b1 quando comparado ao EDTA 17%.
Ivica et al. 2019	Discos de dentina	Sem microrganismos	AC 10% (pH = 2), EDTA 17% (pH 8), PBS.	TGF- β 1	O AC mostrou-se superior ao EDTA na liberação de TGF-b1.
Cameron et al. 2019	Segmentos de raiz	<i>Actinomyces naeslundii</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> e <i>Parvimonas micra</i> .	NAOCL 1,5%, EDTA 17%, NAOCL 1,5% + EDTA 17%.	TGF- β 1	Os protocolos atuais de irrigantes não são suficientes para eliminar completamente as bactérias.

Deniz Sungur et al. 2019	Discos de dentina	Sem microrganismos	EDTA 17%, IP6 1%, HEDP 9%.	TGF- β 1	O grupo do HEDP promoveu maior liberação de TGF- β .
Atesci et al. 2020	Discos de dentina	Sem microrganismos	EDTA 17%, AC 10%, IP6 1%, AF 37%.	TGF- β 1, BMP-2 FGF-2 VEGF	A maior liberação de TGF- β 1 foi verificada no grupo do AC 10% seguido do AF 37%.
Hancerliogllari, Erdemir e Kisa, 2021	Segmentos radiculares	Sem microrganismos	NaOCl 1,5% + solução salina, EDTA 17% + CSI, EDTA 17% + PUI, EDTA 17% + Laser Er: YAG, AC 10% + CSI, AC 10% + PUI, AC 10% + Laser Er: YAG.	TGF- β 1 IGF-1 BMP-7 VEGF-A	Houve uma liberação de TGF- β maior nos grupos de ativação quando comparado ao CSI.

*AC: Ácido Cítrico

*AF: Ácido Fosfórico

*BMP-2: Proteína Morfogênica Óssea 2

*BMP-7: Proteína Morfogênica Óssea 7

*CSI: Irrigação com Seringa Convencional

*DPSC: Células-tronco da Polpa Dentária

*EDTA: Ácido Etilenodiamino Tetra-acético

*FGF-2: Fator de Crescimento de Fibroblasto Básico 2

*VEGF: Fator de Crescimento Endotelial Vascular

*VEGF-A: Fator de Crescimento Endotelial Vascular A

*FGF: Fator de Crescimento de Fibroblasto Básico

*HEDP: Ácido Etidrônico

*IGF-1: Fator de Crescimento Semelhante à Insulina tipo 1

*IP6: Ácido Fítico

*NaOCl: Hipoclorito de Sódio

*PUI: Irrigação Ultrassônica Passiva

*PBS: Solução Salina Tamponada com Fosfato

*TGF- β 1: Fator de Transformação de Crescimento Beta 1

4.2 "Ação de materiais bioativos na liberação de fatores de crescimento da dentina".

Os protocolos clínicos para regeneração endodôntica em dentes permanentes envolvem geralmente estratégias de engenharia tecidual, no qual três fatores apresentam-se essenciais: presença de células-tronco, um arcabouço para formação da matriz extracelular e substâncias sinalizadoras como os fatores de crescimento (ALBUQUERQUE *et al.*, 2014; MOROTOMI; WASHIO; KITAMURA, 2019; NAKASHIMA; AKAMINE, 2005). Durante a dentinogênese primária, essas moléculas bioativas e fatores de crescimento são secretados por odontoblastos e incorporadas à matriz extracelular da dentina (dECM), permanecendo então encapsuladas (fossilizadas) na dentina para que posteriormente possam fornecer um sistema de sinalização para a regeneração (SMITH, A. J. *et al.*, 2012; SMITH, A. J.; LESOT, 2001). A liberação desses fatores da matriz dentinária podem desencadear respostas celulares, modular a resposta imune, promover a angiogênese e contribuir para o recrutamento, diferenciação, proliferação e mineralização de células (GALLER, KERSTIN M. *et al.*, 2015). Diante da extensa possibilidade de atuação desses fatores, o uso de materiais bioativos como o Hidróxido de Cálcio (Ca(OH)₂), Agregado de Trióxido Mineral (MTA), Pasta Tripla Antibiótica (TAP) e Biodentine (BD), têm sido estudados quanto à atuação na liberação de fatores de crescimento, juntamente com seu papel na mineralização tecidual (CHANG *et al.*, 2014; DIOGENES; RUPAREL, 2017; GRAHAM *et al.*, 2006; JUNG *et al.*, 2019; RUPAREL *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2017; TOMSON, PHILLIP L. *et al.*, 2007).

Um dos primeiros estudos que caracterizou a possibilidade de materiais bioativos atuarem na liberação de fatores de crescimento avaliou a capacidade do Ca(OH)₂ em solubilizar os componentes da matriz dentinária, bem como a bioatividade das moléculas liberadas a partir da dentina pulverizada proveniente de dentes humanos saudáveis (GRAHAM *et al.*, 2006). O teste consistiu na extração de componentes da matriz dentinária após o condicionamento da dentina com EDTA 10% (pH 7,2) ou Ca (OH)₂ (pH 11,7). Seguido da quantificação de TGF- β 1 por meio do teste ELISA ao longo de 14 dias. Os resultados mostraram que o grupo EDTA proporcionou a extração de uma maior quantidade de TGF- β 1 (1,3957 a 0,036 ng/mg) quando comparado ao grupo Ca (OH)₂ (0,3647 a 0,012 ng/mg). Dessa forma, pode-se notar que o EDTA exibiu uma absorvância e ação sobre a dentina muito maior do que o Ca(OH)₂, o qual, mesmo, em níveis menores pode exercer seus efeitos na liberação de fatores de crescimento fossilizados na dentina (GRAHAM *et al.*, 2006).

Além das soluções de Ca(OH)₂ (pH 11,9), outras substâncias químicas também têm sido testadas quanto a liberação de fatores de crescimento da dentina, como o MTA branco (pH 11,7) e MTA cinza (pH 11,7) (TOMSON, P. L. *et al.*, 2017). Da mesma forma que o estudo

anterior, foi utilizado dentina pulverizada como amostra, porém preparada a partir de coroas e raízes de molares e pré-molares humanos permanentes hígidos. Sendo posteriormente exposta a 20 ml de cada solução teste (Ca (OH)₂, MTA branco e MTA cinza). Assim como no estudo anterior, a quantidade dos fatores de crescimento liberada foi determinada com a utilização de um kit ELISA. A análise dos resultados relatou a presença de vários membros de diferentes famílias de fatores de crescimento em todos os grupos, dos quais seis citocinas não foram relatados em estudos anteriores, incluindo: Fator de Célula Tronco (SCF), Fator Estimulador de Colônias de Macrófago (M-CSF), Fator Estimulador de Colônia de Granulócitos e Macrófagos (GM-CSF), Proteína 1 de Ligação ao Fator de Crescimento Semelhante à Insulina (IGFBP-1), Fator de Crescimento de Neurônios (NGF) e Fator Neurotrófico Derivado de Células da Glia (GDNF). Com relação a extração de fatores de crescimento, notou-se que VEGF, IGF-II, IGFBP-1, GDNF e EGF estavam presentes em todos os extratos. Entretanto, isso não foi observado com todos os fatores de crescimento, nos quais IGF-I, M-CSF e NGF foram detectados apenas nos extratos dos grupos MTA branco e MTA cinza, enquanto GM-CSF somente foi extraído pelo (Ca (OH)₂ e MTA branco e o SCF foi encontrado apenas na solução de MTA cinza. Dessa forma, observou-se a presença de novos tipos de fatores de crescimento que puderam ser liberados a partir da dentina, demonstrando que esta pode representar um reservatório rico de moléculas sinalizadoras. Além disso, a ação do MTA branco e cinza liberou um perfil mais amplo de moléculas de sinalização quando comparado ao hidróxido de cálcio (TOMSON, P. L. *et al.*, 2017).

No ano seguinte, outro estudo investigou o mecanismo de extração de moléculas bioativas da dentina condicionada por Ca (OH)₂ por um período de tempo maior (HUANG *et al.*, 2018). Para esta avaliação, discos e pó de dentina foram preparados a partir de 696 terceiros molares extraídos sem cárie e não restaurados. O teste consistiu em aplicar na superfície da placa de dentina o pó de Ca (OH)₂ manipulado com água deionizada e uma mecha de algodão umedecido (controle). A quantificação de TGF-β1 também foi realizada por meio do teste ELISA. Os resultados mostraram que o grupo exposto à pasta de Ca (OH)₂ por 3 meses liberou uma quantidade significativa de TGF-β1 (33,37 ± 5,17 pg/ml) e que nenhum TGF-β1 foi detectado no grupo de controle. Nesse experimento, também foi observado que houve uma maior liberação de TGF-β1 nas amostras de dentina pulverizada do que nos discos de dentina, uma vez que, a detecção de TGF-1 nos discos de dentina aproximou-se do seu limite mínimo de detecção (Dose mínima detectável = 4,61 pg/ml, de acordo com o fabricante), o que mostra a influência do preparo do espécime na liberação dos fatores de crescimento (HUANG *et al.*, 2018).

Outro material reparador com efeito bioativo que tem sido amplamente utilizado na prática clínica refere-se ao Biodentine (BD), o qual também foi investigado quanto o seu potencial de liberação de TGF- β 1 da dentina (WATTANAPAKKAVONG; SRISUWAN, 2019). De forma diferente aos estudos anteriores, 27 segmentos de raiz (10mm de comprimento) foram preparados a partir de pré-molares humanos hígidos unirradiculares, de pacientes saudáveis (15 a 25 anos), sendo as superfícies externas cobertas com verniz de esmalte de unha. Essas amostras foram distribuídas aleatoriamente em 3 grupos: 1) MTA, 2) Biodentine, e 3) Amostra sem material (controle), os quais foram avaliados quanto à liberação de TGF-b1 por meio do teste ELISA. Os resultados mostraram que ao longo de 14 dias, a concentração de TGF-b1 liberado da dentina foi superior no grupo do BD (1,35 - 0,21 ng/ml) do que nos grupos MTA e controle (0,07 - 0,11 ng/ml e 0,02 - 0,046 ng/ml, respectivamente). Esse estudo pode concluir que o BD promoveu uma maior liberação de TGF-b1 da dentina do que o MTA quando aplicados como uma barreira na porção coronária de amostras do canal radicular (WATTANAPAKKAVONG; SRISUWAN, 2019).

Diferente da maioria dos estudos descritos até esse momento que mensuraram a atuação de materiais capeadores sobre a dentina hígida, uma pesquisa avaliou a ação dessas substâncias na liberação de TGF-b1 em contato com a dentina infectada (CAMERON *et al.*, 2019). Para testar essa ação, foi criado um modelo de canal radicular a partir de dentes humanos, não inflamados, de pacientes com menos de 20 anos de idade. Esses modelos foram divididos em amostras estéreis (controle) ou infectadas com biofilme polimicrobiano (composto de *Actinomyces naeslundii*, *Fusobacterium nucleatum* e *Parvimonas micra*). A liberação de TGF-b1 foi quantificada mais uma vez por meio do teste ELISA. Antes de submeter os modelos aos protocolos de medicação, foi realizado a desinfecção dos mesmos com 10 ml de NaOCl 1,5% e 10 ml EDTA 17%, simulando o Protocolo de Regeneração Endodôntica preconizado pela Associação Americana de Endodontia (AAE). Após essa desinfecção inicial, as amostras foram submetidas a um dos seguintes protocolos de Medicação Intracanal (MIC): TAP 0,1 mg/ml, TAP 1 mg/ml, TAP 1000 mg/ml (Metronidazol, Ciprofloxacina e Minociclina, na proporção de 1: 1: 1) e Ca (OH)₂ durante 2 semanas. Posteriormente, a MIC foi removida por meio de irrigação com de EDTA 17% (20 ml). Os resultados desse estudo mostram que as amostras estéreis tratadas tanto com TAP (todas as concentrações) quanto com Ca (OH)₂ liberaram menores quantidades de TGF-b1 em comparação com os controles estéreis. Portanto, esse estudo concluiu que a presença de um biofilme residual pode interferir negativamente e diminuir a liberação de TGF-b1 (CAMERON *et al.*, 2019).

Diante desse possível potencial benéfico de atuação dessas substâncias em terapias regeneradoras, um estudo recente também investigou a TAP e Ca (OH)₂ isoladas e associadas à CHX 2% na liberação de TGF-β1 (FERREIRA; PUPPIN-RONTANI; PASCON, 2020). Para tal, amostras foram confeccionadas a partir de discos de dentina cobertos externamente por um verniz ácido resistente, preparados a partir de 39 terceiros molares humanos hígidos, sem lesões de cárie, com pelo menos duas raízes, sem alteração anatômica ou patológica obtidos de pacientes jovens, com idade média (15 a 35 anos). De forma semelhante ao estudo descrito anteriormente, os medicamentos intracanaís testados consistiram de: TAP 100 mg/ml e Ca (OH)₂. Nesse caso, quantificou-se tanto a concentração de TGF-β1 quanto de VEGF pelo método de ELISA. A análise dos resultados mostrou que ambos os medicamentos promoveram a liberação de uma quantidade significativamente baixa de TGF-β1, com a menor liberação estando presente no grupo TAP (p <0,05), enquanto nenhuma liberação de VEGF foi detectada para qualquer grupo. Outra análise realizada investigou a liberação de TGF-β1 quando o uso dessas medicações foi seguido pela aplicação de CHX 2%, adotando os seguintes protocolos: TAP (100 mg/ml (7 dias) + CHX 2% (2 ml/ 5 min), EDTA 10% (pH 7, 220 µL/ 20 min), e Ca (OH)₂ (7 dias) + CHX 2% (2 ml/ 5 min) + EDTA 10 (pH 7, 220 µL/ 20 min). Com base nessa análise, não houve diferença significativa na liberação de TGF-β1 entre os grupos EDTA 10% e TAP + CHX 2%, entretanto para o grupo do Ca (OH)₂ associado a CHX 2% a liberação de TGF-β1 foi significativamente maior (p<0,05). Nesse sentido, o uso de CHX 2% como solução irrigante associado ao Ca (OH)₂ como medicamento intracanal forneceram uma maior liberação de TGF-β1 das amostras de dentina, representando possivelmente um protocolo promissor para o tratamento endodôntico regenerativo (FERREIRA; PUPPIN-RONTANI; PASCON, 2020).

Um resumo das principais materiais bioativos analisados juntamente com o seu efeito na liberação de fatores de crescimento da dentina encontra-se disponível na tabela 2.

Tabela 2. Relação entre materiais bioativos e liberação de fatores de crescimento da dentina.

Autor	Amostra	Presença de Microrganismos	Materiais Bioativos	Fatores de Crescimento Liberados	Resultados
Graham et al. 2006	Dentina pulverizada	Sem microrganismos	EDTA 10% (pH 7,2), Ca (OH) ₂ (pH 11,7).	TGF-b1	O grupo EDTA extraiu maiores quantidades de TGF-b1 do que o grupo Ca (OH) ₂
Tomson et al. 2017	Dentina pulverizada	Sem microrganismos	Solução de Ca (OH) ₂ , Solução de MTA branco ou cinza.	SCF, M-CSF, GM-CSF, IGFBP-1, NGF, e GDNF	O MTA branco e cinza liberaram um perfil mais amplo de moléculas de sinalização do que o Ca (OH) ₂ .
Huang et al. 2018	Discos de dentina e Dentina pulverizada	Sem microrganismos	Pó de Ca (OH) ₂ , Mecha de algodão umedecido.	TGF-β1	Os discos de dentina liberaram menos TGF-β1 quando comparados à dentina pulverizada.
Wattanapakkavong e Srisuwan, 2019	Segmentos radiculares	Sem microrganismos	BD, MTA, Amostra sem material (controle).	TGF-b1	BD aplicado como material capeador promoveu uma maior liberação de TGF-b1 da dentina do canal radicular do que o MTA.
Cameron et al. 2019	Modelo de canal radicular	<i>Actinomyces naeslundii</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> e <i>Parvimonas micra</i>	TAP 0,1mg/ml, TAP 1 mg/ml, TAP 1000 mg/ml, Ca (OH) ₂ .	TGF-b1	Nenhum medicamento eliminou totalmente o biofilme residual, embora o TAP de força total (1000 mg / ml) apresente o maior efeito na redução de colônias.
Ferreira, Puppini-Rontani e Pascon, 2020	Discos de dentina	Sem microrganismos	TAP 100 mg/ml, Pasta de hidróxido de cálcio + CHX 2%.	TGF-β 1, VEGF.	A associação entre TAP e CHX 2% mais EDTA 10% como irrigante final fornecem maior liberação de TGF-β1.

- *APC: Células Isoladas da Papila Apical Humana
 - *BD: Biodentine
 - *Ca (OH)₂: Hidróxido de cálcio
 - *CHX: Clorexidina
 - *EDTA: Ácido Etileno diamino Tetra-acético
 - *GM-CSF: Fator Estimulador de Colônia de Granulócitos e Macrófagos
 - *GDNF: Fator Neurotrófico Derivado de Células da Glia
 - *IGFBP-1: Proteína 1 de Ligação ao Fator de Crescimento Semelhante à Insulina
 - *M-CSF: Fator Estimulador de Colônias de Macrófago
 - *MTA: *Agregado Trióxido Mineral*
 - *NGF: Fator de Crescimento de Neurônios
 - *REPs: Procedimentos Endodônticos Regenerativos
 - *SCF: Fator de Célula Tronco
 - *TAP: Pasta Tripla Antibiótica (metronidazol, ciprofloxacina e minociclina, 1:1:1)
 - *TGF-β1: Fator de Transformação de Crescimento Beta 1
 - * VEGF: Fator de Crescimento Endotelial Vascular
-

5 DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

Danos ao órgão dentário, seja por trauma ou infecção, podem levar a exposição dos túbulos dentinários, favorecendo a difusão de produtos metabólicos de bactérias, que por sua vez passam a afetar as células da polpa dentária. Dentre as células pulpares ativadas por essas agressões encontram-se as Células-tronco Mesenquimais Indiferenciadas (MSCs), que por intermédio de fatores bioativos, estimulam diretamente os mecanismos intracelulares das células danificadas ou aumentam indiretamente a liberação de moléculas sinalizadoras pelas células adjacentes (CAPLAN; DENNIS, 2006; COUVE; OSORIO; SCHMACHTENBERG, 2014; MAUMUS *et al.*, 2011; SMITH, A. J. *et al.*, 1995). Essas moléculas sinalizadoras consistem em citocinas, mediadores inflamatórios, componentes da matriz extracelular e proteínas antimicrobianas que induzem a formação de um microambiente apropriado para o reparo tecidual (YU; ZHANG; LI, 2014). Além da liberação em resposta a um estímulo agressor, essas substâncias podem ser excretadas durante o preparo químico-mecânico do canal radicular ou por intermédio do contato com uma medicação intracanal (ZEHNDER, 2006). Diante da relevância dessas substâncias para intermediar os efeitos celulares reparadores da polpa dental, vários estudos têm investigado protocolos e materiais que possam induzir positivamente e acelerar esse processo.

A partir dos resultados apresentados no presente trabalho, pode-se observar que há uma preferência pela quantificação de TGF- β 1 visto que o mesmo representa fator principal nos processos de reparo tecidual, entretanto, outros fatores de crescimento incluindo FGF-2, VEGF e BMP-2 também foram quantificados. Dentre as amostras selecionadas dentro das metodologias, nota-se um maior uso de discos de dentina preparados a partir de molares humanos extraídos (GALLER, KERSTIN M. *et al.*, 2015; IVICA *et al.*, 2019), com maior preferência para terceiros molares humanos livres de cárie, extraídos de jovens adultos (18-24 anos) (ATESCI *et al.*, 2020). Além disso, também foram utilizados dentes permanentes com raiz única, sem fraturas, ou aberrações anatômicas (CHAE; YANG; KIM, 2018; ZENG *et al.*, 2016) e dentes humanos extraídos, de pacientes com menos de 20 anos de idade (CAMERON *et al.*, 2019). Com relação às soluções irrigadoras investigadas, o EDTA 17% foi testado em todos os estudos, sendo comparado a outras soluções incluindo o Ácido cítrico 10%, Ácido fosfórico 10% e 37%, NAOCL 1,5%, IP6 1% e HEDP 9%, e associações como NAOCL 1,5% + EDTA 17% (ATESCI *et al.*, 2020; CAMERON *et al.*, 2019; CHAE; YANG; KIM, 2018; DENIZ SUNGUR *et al.*, 2019; GALLER, KERSTIN M. *et al.*, 2015; IVICA *et al.*, 2019). O

período de tempo que as amostras de dentina permaneciam em contato com essas substâncias variou de 1 a 20 minutos. Dentre essas soluções condicionantes, seis artigos encontraram melhores resultados de liberação de fatores de crescimento para EDTA (10% ou 17%), principalmente de IGF-1 (CAMERON *et al.*, 2019; DENIZ SUNGUR *et al.*, 2019; GALLER, KERSTIN M. *et al.*, 2015; HANCERLIOGULLARI; ERDEMIR; KISA, 2021; ZENG *et al.*, 2016). Por outro lado, três artigos observaram que o AC 10% apresentou-se superior ao EDTA na liberação de TGF- β 1, no recrutamento, fixação e sobrevivência das células-tronco, e sem aumentar seu efeito citotóxico (ATESCI *et al.*, 2020; CHAE; YANG; KIM, 2018; IVICA *et al.*, 2019). Entretanto, o EDTA 17% liberou mais Fator de Crescimento Semelhante à Insulina tipo 1 (IGF-1) em comparação com AC 10%, o que não ocorreu com os demais fatores de crescimento estudados (HANCERLIOGULLARI; ERDEMIR; KISA, 2021).

Outro aspecto abordado foi em relação a ativação da irrigação, comparando o uso de Seringa Convencional, Ultrassom de forma Passiva, Laser Er: YAG com ponta PIPS (HANCERLIOGULLARI; ERDEMIR; KISA, 2021) e Ativação Ultrassônica (WIDBILLER *et al.*, 2017), demonstrando que essa otimização da irrigação parece contribuir para maior liberação desses fatores de crescimento. Como forma de quantificar a liberação dos fatores de crescimento, o Sistema de Teste de Ensaio Imunoenzimático (ELISA) foi utilizado em todos os estudos. A partir dessa metodologia, demonstrou-se que a liberação de TGF- β 1 foi significativamente maior no grupo do AC 10% do que no grupo do EDTA 17% (ATESCI *et al.*, 2020; CHAE; YANG; KIM, 2018; IVICA *et al.*, 2019). O AC 10% também promoveu uma liberação significativamente maior de TGF- β 1 quando comparado ao AF 10% / 37%, mas não houve diferença estatística entre eles (ATESCI *et al.*, 2020). Quando diferentes concentrações de EDTA foram analisadas observou-se diferenças relevantes entre elas e o grupo do EDTA 10% (pH=7) por 20 minutos resultou na liberação de maiores quantidades de TGF- β 1 (923 pg/ml), enquanto EDTA 10% (pH=6) e EDTA 17% (pH=7) foram menos eficazes (449 pg/ml e 827 pg/ml, respectivamente). Outra observação dos estudos refere-se ao fato que a liberação do fator de crescimento apresentou-se dependente do tempo, no qual o aumento do tempo de exposição resultou em maiores quantidades de TGF- β 1 liberadas (GALLER, KERSTIN M. *et al.*, 2015). Esse mesmo estudo também notou que quando o condicionamento por EDTA é precedido pela utilização de CHX 2% durante 5 minutos há um aumento na quantidade de TGF- β 1, porém quando as amostras eram irrigadas com NaOCl antes do condicionamento com EDTA havia uma redução significativa na liberação de TGF- β 1 (GALLER, KERSTIN M. *et al.*, 2015). Adicionalmente, observou-se que sob condições infectadas havia uma redução

significativa na liberação de TGF- β 1 em comparação com os mesmos irrigantes aplicados em amostras estéreis (CAMERON *et al.*, 2019). Já a liberação de outros fatores, como o FGF-2 e VEGF após condicionamento da dentina mostrou-se também dependente do tempo, mas em níveis mais baixos quando comparado ao TGF- β 1 (GALLER, KERSTIN M. *et al.*, 2015). Outro achado relevante destaca o aumento significativo da liberação dos fatores de crescimento após a ativação das substâncias químicas por meio de Ultrassom de forma Passiva, Laser Er: YAG (HANCERLIOGULLARI; ERDEMIR; KISA, 2021; WIDBILLER *et al.*, 2017). De uma forma geral, observou-se o potencial de ação de soluções irrigadoras condicionantes na liberação de fatores de crescimento fossilizados na dentina. A maioria dessas substâncias parecem ser compostas por ácidos que atuam desmineralizando a dentina e permitindo a extração de fatores de crescimento da dentina. Entretanto, mais estudos que possam esclarecer o melhor protocolo de condicionamento bem como investigar outros aspectos que possam interferir na ação desses fatores de crescimento se fazem necessários para possibilitar que tratamentos conservadores e regenerativos a partir de componentes presentes naturalmente na dentina possam ser mais especificamente utilizados.

De forma semelhante às soluções irrigadoras, substâncias bioativas e medicações intracanaís também parecem exibir esse potencial de liberação de fatores de crescimento e com base nos estudos levantados no presente trabalho pode-se observar que as metodologias das pesquisas empregaram principalmente o pó de dentina como amostra mais frequentemente utilizada (GRAHAM *et al.*, 2006; TOMSON, P. L. *et al.*, 2017), seguido de discos de dentina (FERREIRA; PUPPIN-RONTANI; PASCON, 2020) e segmentos da dentina radicular (CAMERON *et al.*, 2019; WATTANAPAKKAVONG; SRISUWAN, 2019). Dentre os vários protocolos de materiais reparadores testados (Soluções de Ca (OH)₂, MTA Branco, MTA Cinza, BD, TAP e Cimentos de Silicato Tricálcico), os resultados mostraram que a liberação de TGF- β 1 foi proporcionada por todas essas substâncias com maior destaque para o BD. Adicionalmente, observou-se que o MTA Branco ou Cinza liberou uma variedade maior de moléculas de sinalização (VEGF, SCF, IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, M-CSF, GM-CSF, NGF, GDNF, EGF) quando comparado ao Hidróxido de Cálcio (VEGF, IGF-II, IGFBP-1, GM-CSF, GDNF, EGF) (TOMSON, P. L. *et al.*, 2017). Um achado importante foi encontrado para o grupo exposto à pasta de Ca (OH)₂ que liberou uma quantidade significativa de TGF-1 ($33,37 \pm 5,17$ pg/ml), porém na dose mínima detectável (MDD) (1,7 a 15,4 pg/ml), pois os discos de dentina utilizados promoveram uma redução na área de superfície disponível para extração das moléculas bioativas (HUANG *et al.*, 2018). Além disso, quando se comparou a ação do BD

com o MTA, observou-se que o BD promoveu uma maior liberação de TGF- β 1 da dentina do canal radicular do que o MTA quando aplicado como uma barreira coronal (WATTANAPAKKAVONG; SRISUWAN, 2019). Outros achados relevantes envolveram o efeito deletério de biofilme residual na liberação do TGF- β 1 quando tratados com TAP (0,1-1000 mg/ml) ou Ca (OH) $_2$ (CAMERON *et al.*, 2019) e que o protocolo que associou CHX 2% (solução irrigante) + Ca (OH) $_2$ (medicamento intracanal) + EDTA 10% (irrigante final) forneceram maior liberação de TGF- β 1 (FERREIRA; PUPPIN-RONTANI; PASCON, 2020).

Com a liberação dos fatores de crescimento pela dentina, tanto por soluções irrigadoras quanto pelos materiais bioativos, os mesmos precisam atuar sobre as células pulpares para que essas possam exercer os seus efeitos reparadores. Dentre os principais fatores de crescimento estudados, tanto o TGF- β quanto as BMPs têm sido amplamente relacionados à diferenciação celular, à biossíntese da matriz, às respostas imunológicas (NAKASHIMA; AKAMINE, 2005; SLOAN; SMITH, 2007; SMITH, A. J. *et al.*, 1995), e nos últimos anos também têm sido considerados importantes para os procedimentos regenerativos (GALLER, K. M. *et al.*, 2016; KAUSHIK *et al.*, 2016). Um estudo demonstrou que esse efeito da liberação de fatores de crescimento da dentina proporcionado por substâncias bioativas pode influenciar no recrutamento, proliferação e adesão das células mesenquimais às paredes de dentina radicular (KAWAMURA *et al.*, 2016). Essa investigação comparou o potencial regenerativo da polpa / dentina em dentes submetidos à desmineralização com substâncias condicionantes (HCl, GdnHCl, EDTA). A análise histológica e Real-time PCR mostraram que ocorreu a formação de um tecido conjuntivo semelhante à polpa dos dentes tratados com (HCl, GdnHCl, EDTA), esse último exibindo menor potencial regenerador; apresentando, então, o potencial de criar um ambiente indutor de regeneração pulpar e dentinária, promovendo proliferação e migração celular, bem como diferenciação odontoblástica (KAWAMURA *et al.*, 2016).

Seguindo a mesma perspectiva de avaliação da influência desses fatores sobre as células, uma pesquisa avaliou a indução da migração celular pela liberação de TGF- β 1 da dentina humana tratada com AC (pH = 2, 476 mol / L) ou EDTA (ajustado para um pH de 8) quando comparados ao PBS (IVICA *et al.*, 2019). Demonstrando, que o tratamento com AC liberou significativamente maiores quantidades de TGF- β 1, com maior densidade de dentina peritubular e maior migração, adesão e sobrevivência celular do que o EDTA (P <0,05) ou PBS (P <0,01). Além disso, pode-se notar que a irrigação com AC 10% pareceu atrair mais células pluripotentes e que estas conseguiram se aderir às superfícies de dentina condicionadas, mostrando ser benéfico para os tratamentos endodônticos regenerativos (IVICA *et al.*, 2019).

Apesar dos resultados do estudo descrito anteriormente não apresentarem achados favoráveis ao EDTA, o mesmo tem sido considerado uma substância padrão benéfica e acessível na rotina clínica no aumento da liberação de fatores de crescimento (TGF- β 1, VEGF, BMP-2, FGF-2), associando-o inclusive com novas tecnologias como a ativação por meio de *Nanobubble Water* (NB) (AKSEL *et al.*, 2020). Essa associação foi testada quanto à influência no aumento da viabilidade e fixação de células-tronco da polpa dentária (DPSCs) (AKSEL *et al.*, 2020), demonstrando que a viabilidade celular foi significativamente maior quando o condicionamento seguiu o seguinte protocolo: irrigação com NaOCl 1,5% por 5 min seguido por EDTA preparado com nanobolhas e 3 mL de PBS por 3 min (1 ml/min). Diante desses achados, observou-se mais uma forma de ativação do EDTA que pode potencializar o seu efeito na migração, proliferação e fixação das células-tronco da polpa dentária, tornando essa associação promissora para aplicação em terapias regeneradoras da polpa dentária (AKSEL *et al.*, 2020).

Além do EDTA, o AC também foi investigado quanto aos seus efeitos benéficos sobre as células pulpares por meio da liberação de TGF- β 1 da dentina (ATESCI *et al.*, 2020). Em uma pesquisa, foram comparados os efeitos do condicionamento dentinário com EDTA, AC, IP6 e AF no comportamento das Células-Tronco Mesenquimais (CTM), evidenciando que nenhuma das soluções testadas provocaram algum impacto adverso na proliferação ou na fixação das células-tronco. Por outro lado, as análises morfológicas mostraram um grande número de células com diferentes morfologias (arredondadas, alongadas e achatadas), principalmente no grupo EDTA. Entretanto, o mesmo não ocorreu com os demais grupos. No grupo do AC, quantificou-se um menor número de células redondas, enquanto no grupo IP6 foram observadas células achatadas com processos citoplasmáticos e filopódios com mais frequência e uma abundância de células redondas. Já no grupo do AF 37%, além de mostrar uma maior frequência de células achatadas com processos citoplasmáticos e filópodes bem fixadas, células redondas e alongadas também foram observadas. Dessa forma, foi possível notar que em todas as soluções testadas observaram-se diferentes morfologias celulares (arredondadas, alongadas e achatadas) e que estas células se encontravam bem aderidas, não havendo nenhum efeito adverso das soluções irrigadoras na proliferação e fixação celular (ATESCI *et al.*, 2020).

Diante desses resultados, observa-se a relevância do emprego de materiais bioativos na liberação de fatores de crescimento que irão atuar no processo de reparo e regeneração tecidual tanto em terapias vitais da polpa (capeamentos pulpares, pulpotomias) quanto em tratamentos

endodônticos regenerativos. Entretanto, mais estudos são necessários para se estabelecer o protocolo de soluções irrigadoras e materiais reparadores que sejam mais efetivos na liberação de fatores de crescimento, bem como qual a quantidade mínima ideal desses fatores de crescimento para que haja a otimização do processo de reparo/ regeneração tecidual. Outro aspecto a ser analisado, refere-se ao impacto que um biofilme pode gerar sobre a liberação dos fatores de crescimento e posterior repercussão/ influencia no reparo/ regeneração, uma vez que, clinicamente os dentes apresentam-se infectados.

6 CONCLUSÃO

6 CONCLUSÃO

De uma forma geral, observou-se o potencial de ação das substâncias químicas rotineiramente utilizadas no tratamento endodôntico como condicionantes na liberação de fatores de crescimento fossilizados na dentina. A maioria dessas substâncias parecem ser compostas por ácidos que atuam na desmineralização da dentina e permitem a extração de fatores de crescimento. Esses fatores de crescimento, poderão atuar no processo de reparo e regeneração tecidual tanto em terapias vitais da polpa (capeamentos pulpare, pulpotomias) quanto em tratamentos endodônticos regenerativos. Entretanto, mais estudos que possam esclarecer o melhor protocolo de condicionamento e a quantidade mínima ideal desses fatores de crescimento que possam interferir na otimização do processo de reparo/ regeneração tecidual a partir de componentes presentes naturalmente na dentina são necessários. Além disso, este trabalho também detectou lacunas de mais estudos clínicos que expliquem o impacto que a presença de um biofilme pode gerar sobre a liberação dos fatores de crescimento e posterior repercussão/ influencia no reparo/ regeneração, uma vez que, na prática clínica a maioria dos dentes apresentam-se infectados.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ABD-ELMEGUID, Ashraf *et al.* Osteocalcin expression in pulp inflammation. **Journal of Endodontics** , 2013.
- AGUILAR, Panuroot; LINSUWANONT, Pairoj. *Vital pulp therapy in vital permanent teeth with cariously exposed pulp: A systematic review* .**Journal of Endodontics**. [S.l: s.n.], , 2011
- AKSEL, Hacer *et al.* Dentin Conditioning Protocol for Regenerative Endodontic Procedures. **Journal of Endodontics** , 2020.
- ALBUQUERQUE, M. T.P. *et al.* *Tissue-engineering-based strategies for regenerative endodontics* .**Journal of Dental Research**. [S.l: s.n.], , 2014
- ALGHILAN, M. A. *et al.* Attachment and proliferation of dental pulp stem cells on dentine treated with different regenerative endodontic protocols. **International Endodontic Journal** , 2017.
- ALQADERI, Hend E.; AL-MUTAWA, Sabiha A.; QUDEIMAT, Muawia A. MTA pulpotomy as an alternative to root canal treatment in children's permanent teeth in a dental public health setting. **Journal of Dentistry** , 2014.
- ARIAS-MOLIZ, Maria Teresa *et al.* Antimicrobial activity of a sodium hypochlorite/etidronic acid irrigant solution. **Journal of Endodontics** , 2014.
- ATESCI, Alp Abidin *et al.* Effect of Different Dentin Conditioning Agents on Growth Factor Release, Mesenchymal Stem Cell Attachment and Morphology. **Journal of Endodontics** , 2020.
- BEENKEN, Andrew; MOHAMMADI, Moosa. *The FGF family: Biology, pathophysiology and therapy* .**Nature Reviews Drug Discovery**. [S.l: s.n.], , 2009
- BRIZUELA, C. *et al.* Inflammatory biomarkers in dentinal fluid as an approach to molecular diagnostics in pulpitis. **International Endodontic Journal** , 2020.
- CAMERON, Ritter *et al.* Effect of a Residual Biofilm on Release of Transforming Growth Factor β 1 from Dentin. **Journal of Endodontics** , 2019.
- CAPLAN, Arnold I.; DENNIS, James E. *Mesenchymal stem cells as trophic mediators* .**Journal of Cellular Biochemistry**. [S.l: s.n.], , 2006
- CHAE, Y.; YANG, M.; KIM, J. Release of TGF- β 1 into root canals with various final irrigants in regenerative endodontics: an in vitro analysis. **International Endodontic Journal** , 2018.
- CHANG, Seok Woo *et al.* Effects of calcium silicate endodontic cements on biocompatibility and mineralization-inducing potentials in human dental pulp cells. **Journal of Endodontics** , 2014.
- COUVE, E.; OSORIO, R.; SCHMACHTENBERG, O. Reactionary dentinogenesis and neuroimmune response in dental caries. **Journal of Dental Research** , 2014.
- DENIZ SUNGUR, D. *et al.* Effect of dentine conditioning with phytic acid or etidronic acid on growth factor release, dental pulp stem cell migration and viability. **International Endodontic Journal** , 2019.
- DIOGENES, Anibal; RUPAREL, Nikita B. *Regenerative Endodontic Procedures: Clinical Outcomes* .**Dental Clinics of North America**. [S.l: s.n.], , 2017
- ELSALHY, M.; AZIZIEH, F.; RAGHUPATHY, R. Cytokines as diagnostic markers of pulpal inflammation. **International Endodontic Journal** , 2013.
- ENDODONTISTS, American Association of. Glossary of Endodontic Terms 2016. **Glossary of Endodontic Terms** , 2015.
- FERREIRA, Livia Nazareth; PUPPIN-RONTANI, Regina Maria; PASCON, Fernanda Miori. Effect of Intracanal Medicaments and Irrigants on the Release of Transforming Growth Factor Beta 1 and Vascular Endothelial Growth Factor from Cervical Root Dentin. **Journal of Endodontics** , 2020.
- GALANI, Mohit *et al.* Comparative Evaluation of Postoperative Pain and Success Rate after Pulpotomy and Root

- Canal Treatment in Cariously Exposed Mature Permanent Molars: A Randomized Controlled Trial. **Journal of Endodontics** , 2017.
- GALLER, K. M. *et al.* EDTA conditioning of dentine promotes adhesion, migration and differentiation of dental pulp stem cells. **International Endodontic Journal** , 2016.
- GALLER, Kerstin M. *et al.* Dentine conditioning codetermines cell fate in regenerative endodontics. **Journal of Endodontics** , 2011.
- GALLER, Kerstin M. *et al.* Influence of root canal disinfectants on growth factor release from dentin. **Journal of Endodontics** , 2015.
- GOLDBERG, Michel *et al.* Inflammatory and immunological aspects of dental pulp repair. **Pharmacological Research** , 2008.
- GOLDBERG, Michel *et al.* *The impact of bioactive molecules to stimulate tooth repair and regeneration as part of restorative dentistry*. **Dental Clinics of North America**. [S.l: s.n.] , 2006
- GRAHAM, Lee *et al.* The effect of calcium hydroxide on solubilisation of bio-active dentine matrix components. **Biomaterials** , 2006.
- HANCERLIOGULLARI, Dilek; ERDEMIR, Ali; KISA, Ucler. The effect of different irrigation solutions and activation techniques on the expression of growth factors from dentine of extracted teeth. **International Endodontic Journal** n. September 2020, p. 1–10 , 2021.
- HARGREAVES, Kenneth M.; DIOGENES, Anibal; TEIXEIRA, Fabricio B. Treatment options: Biological basis of regenerative endodontic procedures. 2013, [S.l: s.n.], 2013.
- HOWARD, Cameron; MURRAY, Peter E.; NAMEROW, Kenneth N. Dental pulp stem cell migration. **Journal of Endodontics** , 2010.
- HUANG, Xue qing *et al.* Mechanism of bioactive molecular extraction from mineralized dentin by calcium hydroxide and tricalcium silicate cement. **Dental Materials** v. 34, n. 2, p. 317–330 , 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2017.11.010>>.
- IVICA, Anja *et al.* Biomimetic Conditioning of Human Dentine Using Citric Acid. **Journal of Endodontics** , 2019.
- JUNG, Chanyong *et al.* *Pulp-dentin regeneration: current approaches and challenges* .**Journal of Tissue Engineering**. [S.l: s.n.] , 2019
- KAUSHIK, Sagar N. *et al.* *Biomimetic microenvironments for regenerative endodontics* .**Biomaterials Research**. [S.l: s.n.] , 2016
- KAWAMURA, Rei *et al.* EDTA soluble chemical components and the conditioned medium from mobilized dental pulp stem cells contain an inductive microenvironment, promoting cell proliferation, migration, and odontoblastic differentiation. **Stem Cell Research and Therapy** , 2016.
- L., Sadaghiani *et al.* Growth Factor Liberation and DPSC Response Following Dentine Conditioning. **Journal of dental research** , 2016.
- LI, Yucheng *et al.* Odontoblast-like cell differentiation and dentin formation induced with TGF- β 1. **Archives of Oral Biology** , 2011.
- LINSUWANONT, Pairoj *et al.* Treatment Outcomes of Mineral Trioxide Aggregate Pulpotomy in Vital Permanent Teeth with Carious Pulp Exposure: The Retrospective Study. **Journal of Endodontics** , 2017.
- MAGLOIRE, H. *et al.* *Molecular regulation of odontoblast activity under dentin injury*. **Advances in dental research**. [S.l: s.n.] , 2001
- MARTIN, David E. *et al.* Concentration-dependent effect of sodium hypochlorite on stem cells of apical papilla survival and differentiation. **Journal of Endodontics** , 2014.
- MAUMUS, Marie *et al.* *Mesenchymal stem cell-based therapies in regenerative medicine: Applications in*

- rheumatology* .**Stem Cell Research and Therapy**. [S.l: s.n.] , 2011
- MOROTOMI, Takahiko; WASHIO, Ayako; KITAMURA, Chiaki. *Current and future options for dental pulp therapy* .**Japanese Dental Science Review**. [S.l: s.n.] , 2019
- NAKASHIMA, Misako; AKAMINE, Akifumi. *The application of tissue engineering to regeneration of pulp and dentin in endodontics* .**Journal of Endodontics**. [S.l: s.n.] , 2005
- NIWA, Takahiko *et al.* The dynamics of TGF- β in dental pulp, odontoblasts and dentin. **Scientific Reports** , 2018.
- QUDEIMAT, M. A. *et al.* Mineral trioxide aggregate pulpotomy for permanent molars with clinical signs indicative of irreversible pulpitis: a preliminary study. **International Endodontic Journal** , 2017.
- RUFAS, Pierre *et al.* Complement C3a Mobilizes Dental Pulp Stem Cells and Specifically Guides Pulp Fibroblast Recruitment. **Journal of Endodontics** , 2016.
- RUPAREL, Nikita B. *et al.* Direct effect of intracanal medicaments on survival of stem cells of the apical papilla. **Journal of Endodontics** , 2012.
- SALEHI, Satin *et al.* Dentin matrix components extracted with phosphoric acid enhance cell proliferation and mineralization. **Dental Materials** , 2016.
- SILVA, Lea Assed Bezerra *et al.* Furcation Perforation: Periradicular Tissue Response to Biodentine as a Repair Material by Histopathologic and Indirect Immunofluorescence Analyses. **Journal of Endodontics** , 2017.
- SLOAN, A. J.; SMITH, A. J. *Stem cells and the dental pulp: Potential roles in dentine regeneration and repair* .**Oral Diseases**. [S.l: s.n.] , 2007
- SMITH, A. J. *et al.* Dentine as a bioactive extracellular matrix .**Archives of Oral Biology**. [S.l: s.n.] , 2012
- SMITH, A. J. *et al.* Reactionary dentinogenesis. **International Journal of Developmental Biology** , 1995.
- SMITH, A. J.; LESOT, H. Induction and regulation of crown dentinogenesis: Embryonic events as a template for dental tissue repair? **Critical Reviews in Oral Biology and Medicine** , 2001.
- SMITH, Anthony J. *et al.* Exploiting the Bioactive Properties of the Dentin-Pulp Complex in Regenerative Endodontics .**Journal of Endodontics**. [S.l: s.n.] , 2016
- TAKAHASHI, M. *et al.* The importance of size-exclusion characteristics of type i collagen in bonding to dentin matrices. **Acta Biomaterialia** , 2013.
- TOMSON, P. L. *et al.* Growth factor release from dentine matrix by pulp-capping agents promotes pulp tissue repair-associated events. **International Endodontic Journal** , 2017.
- TOMSON, Phillip L. *et al.* Dissolution of bio-active dentine matrix components by mineral trioxide aggregate. **Journal of Dentistry** , 2007.
- TREVINO, Ernesto G. *et al.* Effect of irrigants on the survival of human stem cells of the apical papilla in a platelet-rich plasma scaffold in human root tips. **Journal of Endodontics** , 2011.
- VIOLICH, D. R.; CHANDLER, N. P. *The smear layer in endodontics - A review* .**International Endodontic Journal**. [S.l: s.n.] , 2010
- WATTANAPAKKAVONG, Kunlada; SRISUWAN, Tanida. Release of Transforming Growth Factor Beta 1 from Human Tooth Dentine after Application of Either ProRoot MTA or Biodentine as a Coronal Barrier. **Journal of Endodontics** , 2019.
- WIDBILLER, M. *et al.* Ultrasonic activation of irrigants increases growth factor release from human dentine. **Clinical Oral Investigations** , 2017a.
- WIDBILLER, M. *et al.* Ultrasonic activation of irrigants increases growth factor release from human dentine. **Clinical Oral Investigations** v. 21, n. 3, p. 879–888 , 2017b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00784-016-1824-1>>.

YU, Bo; ZHANG, Xiaomin; LI, Xiaorong. *Exosomes derived from mesenchymal stem cells* .**International Journal of Molecular Sciences**. [S.l: s.n.]. , 2014

ZANINI, Marjorie; HENNEQUIN, Martine; COUSSON, Pierre Yves. *A Review of Criteria for the Evaluation of Pulpotomy Outcomes in Mature Permanent Teeth* .**Journal of Endodontics**. [S.l: s.n.]. , 2016

ZEHNDER, Matthias *et al.* Cytokine gene expression - Part of host defence in pulpitis. **Cytokine** , 2003.

ZEHNDER, Matthias. *Root Canal Irrigants* .**Journal of Endodontics**. [S.l: s.n.]. , 2006

ZENG, Qian *et al.* Release of Growth Factors into Root Canal by Irrigations in Regenerative Endodontics. **Journal of Endodontics** , 2016.

